

Aus der Universitäts-Frauenklinik Erlangen
Direktor: Prof. Dr. R. Dyroff

Ist die Atebrinausscheidung im Harn zur Carcinom-Frühdiagnose brauchbar?

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen

vorgelegt von
Dietrich Lindner aus Gumpertsdorf O/S.
1956

Aus der Universitäts-Frauenklinik Erlangen
Direktor: Prof. Dr. R. Dyroff

Ist die
Atebrinausscheidung im Harn
zur Carcinom-Frühdiagnose
brauchbar?

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu Erlangen

vorgelegt von
Dietrich Lindner
aus Gumpertsdorf O/S



Dekan : Prof.Dr. Ranke
Referent : Prof.Dr. Dyroff

Tag der mündlichen Prüfung: 12.7.55.

Disposition

- - - - -

Seite

A.	Bisher bekannte, allgemeine Reaktionen und Methoden zur Carcinom-Frühdiagnose	4
B.	I. Die selektive Speicherung radioaktiver Isotope II. Die tumoraffinen Farbstoffe, speziell das Atebrin 1.) Die Speicherung und Darstellung des Atebrins im Tumorgewebe 2.) Die Ausscheidung und der Nachweis von Atebrin im Harn III. Die Atebrin-Ausscheidung im Harn, eine brauchbare Methode der Carcinom-Früh- diagnostik? 1.) Die Chemie und Pharmakologie des Atebrins 2.) Die physikalischen Grundlagen der Untersuchungsmethoden a.) Die Fluoreszenzuntersuchungen b.) Die Messung der Absorptions- spektren 3.) Die Ausscheidungsuntersuchungen an Gesunden und Kranken 4.) Diskussion	12 13 13 16 18 18 22 22 23 31 41
C.	Zusammenfassung	46

Trotz der Fortschritte in der allgemeinen klinischen Untersuchungstechnik, der Erweiterung der Roentgendiagnostik und der Verfeinerung der pathologisch-anatomischen Untersuchungsmethoden ist es bis heute vielfach noch nicht möglich, die Frühstadien des malignen Geschwulstwachstums zu erkennen. Die Mehrzahl der Carcinome wird auch heute noch in einem fortgeschrittenen Stadium, unter Umständen erst beim Auftreten von Metastasen diagnostiziert. Dabei hängt der Erfolg der modernen Therapie der Malignome, die meistens in einer Radium - Roentgen - Bestrahlung oder Operation besteht, sehr wesentlich von der Frühdiagnose des Tumors ab. Bei fortgeschrittenen Carcinomen ist die Aussicht auf dauernde Heilung mehr oder weniger stark eingeschränkt.

Für die Verbesserung der Heilungsziffern ist neben der Weiterentwicklung der Carcinomtherapie die Frühdiagnose des Tumors sehr wichtig, um die Patienten möglichst frühzeitig in ärztliche Behandlung zu führen. Es ist von jeher das Bestreben gewesen, Methoden auszuarbeiten, die eine Frühdiagnose des Carcinoms bei fehlenden oder geringen klinischen Symptomen bei gleichzeitiger Abgrenzung gegenüber unspezifischen Entzündungen ermöglichen sollen. Neben der Weiterentwicklung der klinischen Diagnostik wurden in den letzten zwanzig Jahren mehr und mehr physiologisch-chemische Untersuchungsmethoden zu diesem Zweck entwickelt.

Besonders in den letzten zehn Jahren sind zahlreiche Publikationen, die sich mit dem Problem der Frühdiagnose befassen, erschienen. Ihre ausgedehnte klinische Prüfung zeigte jedoch, daß es bis heute noch

keine zufriedenstellende allgemeine Carcinomfrühdiaagnose gibt. Dagegen lassen sich zur Diagnostik bestimmter Organtumoren einzelne Methoden mit bereits beachtlichem Erfolg anwenden. Im folgenden werden die wesentlichsten Ergebnisse auf dem Gebiet der physiologisch-chemischen Frühdagnostik der bösartigen Geschwülste angeführt. Die Reaktionen, die erst bei zunehmender Größe der Tumoren positiv ausfallen, sind hierbei nicht berücksichtigt worden, weil in diesem Fall keine besseren Aussagen gegenüber den gebräuchlichen klinischen Untersuchungen zu erwarten sind.

Die bekannteste Methode ist die ABDERHALDEN-sche Abwehr-Proteinase-Reaktion (1 - 3). Nach ABDERHALDEN sollen auf diesem Wege 80 % richtige Diagnosen gestellt werden können, vor allem bei Gallenblasen- und Lebertumoren soll die Treffsicherheit sogar 100 % erreichen. TETZNER (100) hat diese Methode nachgeprüft, konnte aber die von ABDERHALDEN angegebenen Werte wegen methodischer Schwierigkeiten nicht erzielen. Er vertritt die Auffassung, daß "die Grenzen der Reaktion" klinisch noch nicht festliegen und deshalb die Ergebnisse nur mit Vorbehalt zu verwerten sind. Da sich nach TETZNER und STICH (95) die Substratgewinnung wesentlich verbessern läßt, besteht bei der grossen Spezifität der entdeckten Proteinase Aussicht auf eine erfolgreiche Anwendung in der Carcinomfrühdiaagnose.

In der BENDIEN-schen Eiweißlabilitätsreaktion (77) sollen durch ein Essigsäure-Vanadat-Gemisch die Eiweißkörper des Serums von Gesunden und Malignomträgern unterschiedlich ausgefällt werden. Nach Untersuchungen von MERTEN (77) ist aber diese Reaktion sehr unspezifisch, und es besteht deshalb keine Möglichkeit, sie zur Unterstützung anderer Carcinomreaktionen heranzuziehen.

Über eine andere Serum-Eiweiß-Fällungsreaktion ist in der letzten Zeit von WITTING berichtet worden (69, 109). Als Fällungsmittel wird ein Gemisch

von Neutralsalzen und Fettsäuren benutzt, das er in der Untersuchung von über 5000 Patientenseren erprobt hat. Es soll auf diesem Wege möglich sein, maligne Tumoren zu einem sehr hohen Prozentsatz frühzeitig zu erkennen. Weiter wird berichtet, daß bei Gesunden das Vorhandensein bösartiger Geschwülste bis zu 97 % ausgeschlossen werden konnte. Eine abschließende klinische Beurteilung dieser Methode von anderer Seite steht jedoch noch aus.

Eine weitere Serumeiweißreaktion ist von LEHMANN - FACIUS und WITTING (68) ausgearbeitet worden. Sie beruht darauf, daß das Serumeiweiß von Krebskranken von einem im normalen Meerschweinchen-Serum enthaltenen Antikörper abgebaut wird, während das Serumeiweiß von Gesunden unangegriffen bleibt. Durch diese Proteolyse werden alkohollösliche Spaltprodukte gebildet, die eine positive Ninhydrin-Reaktion geben. Jedoch läßt sich diese Untersuchungsmethode klinisch nicht verwerten (99).

Bei der proteolytischen Reaktion nach FUCHS (47) finden BERNHARD und KÖHLER (15, 16) 93 % positiv richtige und 89 % negativ richtige Diagnosen. Andere Autoren (7, 8, 86, 87, 99) weisen aber auf die "engen Grenzen" dieser Reaktion hin. ROBINSON (86, 87) gibt diese mit 36-96 % richtigen Diagnosen an, denen 2-46 % falsche Diagnosen gegenüberstehen.

Auch die carcinolytische Intracutan-Impf-Reaktion mit der "Materia peccans" (Carcinomfettsäure, durch Aetherextraktion aus einer Nährlösung gewinnbare kristallinische Substanz) ist auf Grund einer Reihe von Störfaktoren nicht ausreichend spezifisch für eine Carcinomdiagnose (74), obgleich FREUND und KAMINER (45, 46) auf diesem Wege von 261 histologisch gesicherten malignen Geschwülsten 252 richtig diagnostizieren konnten. Bei der Kontrolluntersuchung von 176 Gesunden reagierten 26 positiv.

Nach BERNHARD und KÖHLER (17) nimmt beim Krebsleiden das atoxylfeste, fettspaltende Ferment im Blutserum zu. Ihre Bestimmung konnte sich aber als diagnostisches Hilfsmittel nicht durchsetzen.

WYNNE (110) weist darauf hin, daß den von KAHN (58, 59) entwickelten serologischen Universalreaktionen, die auf einer Verringerung des am schwersten fällbaren Albuminanteils (Albumin A) im Serum von Krebskranken beruhen, zur Unterscheidung von malignen und benignen Prozessen keine diagnostische Bedeutung zukommt, da auch bei Schwangerschaft, Leberinsuffizienz, Nierenerkrankung, Hydraemie und anderen Erkrankungen der gleiche Effekt auftritt (56).

Die bei Tumoren eintretenden Immunisierungsvorgänge werden bei der Methode von DOMAGK (38, 39) ausgenutzt. Injektionen mit dem von ihm hergestellten menschlichen "Carcinom-Extrakt" werden von Krebskranken mit schmerzhaften Reaktionen sowohl am Sitz des Tumors als auch in den Metastasen beantwortet, während krebsfreie Menschen diese meist reaktionslos vertragen. So konnten BOSHAMMER und KOCH (21) in 96 % der Fälle den Sitz des Tumors und vorhandene Metastasen nachweisen. Das abschließende Urteil der Methode steht noch aus.

Die polarographische Analyse einer grossen Anzahl von Seren von Gesunden, von Geschwulstkranken und von Patienten mit den verschiedenartigsten anderen Krankheiten hat ergeben, daß sich mit dieser Methode ein sehr hoher Prozentsatz der carcinomatösen und sarkomatösen Erkrankungen erkennen läßt. Eine Verfeinerung dieser Methode ist durch Verwendung von enteiweißtem Serum erzielt worden. WALDSCHMIDT-LEITZ (22, 23, 105) gibt an, daß sich unter mehr als 500 sichergestellten Carcinomfällen der verschiedensten Art durchschnittlich 95 % mit Hilfe dieser Methode erkennen lassen. WEDEMEYER (107) und MEYER-HECK (79) konnten diese Resultate jedoch nicht bestätigen.

- In letzter Zeit ist von FONTI (42-44) über eine neue Methode berichtet worden, die auf einer Färbung von Blutaussstrichen mit einem Gemisch von 8 Farbstoffen beruht. Die gefärbten, polymorphzelligen, scharf umschriebenen Gebilde, die intra- sowie extrazellulär liegen, sollen für ein Carcinom charakteristisch sein. Die Diskussion auf dem Innsbrucker Kongreß für Carcinomforschung 1954 hat ergeben, daß eine abschließende Beurteilung dieser Reaktion noch nicht möglich ist.

Von SCHUMMELFEDER (93), STRAUS (97) und KNOTH (60) wurden bei der KUHN-JERCHEL-Reaktion (64, 65) mit Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC) verschiedene Fehlermöglichkeiten nachgewiesen. Über die endgültige Fehlerbreite ist bis heute noch nichts bekannt, da die Untersuchungen nur an wenigen Patienten durchgeführt wurden.

Weiterhin wurden noch eine ganze Reihe empirischer Methoden wie zum Beispiel Hitzekoagulationsproben, Flockungsreaktionen, die Kupferchloridkristallisation, die Methylenblaufärbung, der Jodacetatindex (1949 als HUGGINS-MILLER-JENSEN-Test bekannt) (57) und der BOLEN-Test (19, 20, 40, 83, 84, 85) sowie die Melanophorenhormon-Inaktivierung nach RODEWALD (89) und die ROFFO-sche Carcinom-Reaktion (9) durchgeprüft. Auch die mit diesen Reaktionen erzielten Ergebnisse sind in keinem Falle zufriedenstellend, so daß eine klinische Anwendung dieser Methoden nicht in Frage kommt.

Alle oben erwähnten Methoden haben eine zum Teil nicht unerhebliche Fehlerbreite, die ihre klinische Bedeutung einschränkt. Da sie außerdem meistens auf komplizierten und auch nicht leicht durchführbaren Reaktionen beruhen, haben sie sich in der Carcinomdiagnostik nicht durchsetzen können. Demgegenüber ist die humorale Diagnostik hormonell aktiver Tumoren ein häufig angewendetes, erfolversprechendes Untersuchungsverfahren. Hierzu gehört die Diagnose eines aktiven Chorion-

epithelioms (besonders des männlichen) mit Hilfe der ASCHHEIM-ZONDEK-Reaktion (11). Nebennierenrindentumoren lassen sich durch Bestimmung der Steroidhormone nach DOBRINER (37) erkennen. Der Anstieg der Harnexkretion der β -Fraktion der C 17-Ketosteroide bei vorhandenen Geschwülsten, die normalerweise nur 5 % beträgt, bis über 50 % ist von J. BAUER und KARL (12) bestätigt worden. Weiterhin beobachteten DOBRINER und Mitarbeiter, daß das 11-Hydroxy-aethiocholanon im Harn von Gesunden gar nicht oder nur selten gefunden wird, während es bei neoplastischen Erkrankungen einschließlich Haemoblastosen regelmäßig auftritt, was auf eine Dysfunktion der Nebennierenrinde zurückgeführt werden kann. Eine klinische Auswertung dieses Befundes liegt noch nicht vor. Zur Diagnose des Seminoms soll nach K.H. BAUER (13) auch der Prolan-Test brauchbar sein.

Das Studium der Serumphosphatasen läßt erkennen, daß bei Prostatatumoren und auch anderen Tumoren die alkalischen Phosphatasen gegenüber der Norm vermehrt auftreten. Da beim Prostatacarcinom mit Metastasenbildung (Knochenmarksmetastasen) nicht nur die alkalischen, sondern auch die sauren Phosphatasen erhöht sind, ist eine Differenzierung der malignen von den benignen Geschwülsten möglich. Wie von verschiedenen Seiten berichtet wird, hat sich die quantitative Erfassung der sauren Serumphosphatasen zur Diagnose des Prostatacarcinoms mit Einbruch in die Blut- und Lymphbahn bewährt (27, 35, 52, 53, 78, 88, 91, 98, 71).

Neben diesen rein serologischen und hormonalen Methoden ist schon frühzeitig durch Erweiterung und Verfeinerung der pathologisch-anatomischen Untersuchungstechnik eine histologische Frühdiagnose des Krebses angestrebt worden. Hier sind die Fortschritte in der Cytologie der Körperflüssigkeiten, des Scheidenabstrichverfahrens und der Punktionen zu erwähnen. So läßt zum Beispiel auch die Sternalpunktion in verschiedenen Fällen mit ausgedehnter Knochenmarksmetastasierung eine Ge-

schwulstdiagnose zu (61).

Die an der Portio, der Vagina und Vulva vorkommenden gutartigen und bösartigen Epithelproliferationen versuchten LIMBURG und Mitarbeiter (71) zu differenzieren. Die Bestimmung der anaeroben Glykolyse eines Gewebsschnittes mit Hilfe der manometrischen Methode nach O. WARBURG soll bei Carcinomen einen erhöhten Quotienten ergeben, jedoch ist sie so kompliziert, daß sie leider keine breite klinische Anwendung finden kann.

MENKEN (76) sprach auf der Krebstagung am 6. Juni 1953 über die Möglichkeit, auf photographischem oder chemischem Wege das maligne und benigne entartete Gewebe insbesondere am weiblichen Genitale zu differenzieren. Er gibt dazu verschiedene Vitalfärbungen und neuartige Kombinationen von Fluorochromen nach fermentativem Angriff an.

TRIEBEL und EMMERICH (102) führten die Tatsache, daß die Oxydation die cancerogene Wirkung aufhebt, zu folgender Arbeitshypothese: Die primäre Phase der Erkrankung an bösartigen Geschwülsten ist eine gestörte Oxydationsfähigkeit des gesamten betroffenen Organismus, die in einer Störung des Fermenthaushaltes zu erblicken ist. Die Geschwulstbildung selbst ist ein zelluläres, sekundäres Problem. Der mit dem arteriellen Blut dem Gewebe angebotene Sauerstoff kann nicht in dem Maße ausgenutzt werden, wie dies beim gesunden Organismus der Fall ist. Die Differenz im Sauerstoffgehalt des arteriellen und venösen Blutes muß folglich bei Malignomträgern im Vergleich zur Norm erniedrigt sein. Ein Maß für diese Differenz ist der bei einer Wellenlänge von 617 m μ gemessene Extinktionskoeffizient des venösen und des sauerstoffgesättigten Blutes; die kritische Größe des Quotienten soll nach TRIEBEL 2,0 sein. Bei 212 Untersuchungen fand er an Trägern bösartiger Tumoren immer diesen Quotienten unter 2,0, während die Masse der klinisch Gesunden einen Quotienten über 2,0 zeigte.

THOMAS und DITTMAYER (101) beschäftigten sich an unserer Klinik ebenfalls mit den Blutgasveränderungen bei Carcinomträgerinnen. Mittels einer besonderen Methodik wurde unter anderem von 60 unbehandelten krebskranken Frauen unter Grundumsatzbedingungen das Blut aus der Vena cubitalis entnommen und bei 53 Vergleichsuntersuchungen von Gesunden beziehungsweise carcinomfreien Patientinnen im Spektrophotometer nach Beckman die Extinktionen des Haemoglobins und Oxyhaemoglobins bei den Wellenlängen von 600-650 m μ gemessen. Dabei konnten folgende Ergebnisse festgestellt werden:

- 1.) Die Extinktionsdifferenz des Haemoglobins zum Oxyhaemoglobin entsprechend der arterio-venösen Sauerstoffdifferenz ist bei Gesunden individuell verschieden groß und schwankt zwischen Werten von maximal 3,6 und minimal 1,8 . 75 % aller Fälle liegen zwischen 2,4 und 3,6 .
- 2.) Die Extinktionsdifferenz des Haemoglobins zum Oxyhaemoglobin ist bei Carcinomträgerinnen relativ erheblich niedriger als bei Gesunden. 75 % aller Fälle liegen unter 2,4 .
- 3.) Hohe Differenzen sprechen gegen das Vorliegen eines Carcinoms, niedrige dafür.

Exaktere Formulierungen erscheinen den Autoren nicht gerechtfertigt und auch nicht möglich, wenn man als Ursache dieser Feststellungen den Stoffwechsel des Tumors in Anspruch nimmt und das Blut einer tumorfernen Vene untersucht. Zur Klärung dieser Verhältnisse haben sie daher begonnen, die aus dem Tumor abführende Hauptvene zu punktieren und fanden die Annahme bestätigt, daß die erhöhte Sauerstoffspannung des venösen Blutes ein Kriterium der bösartigen Geschwulst darstellt. Weiterhin glauben die Autoren, Korrelationen feststellen zu können, die sich aus der Malignität des Tumors und der arterio-venösen Sauerstoffdifferenz ergeben:

Je bösartiger der Tumor, je rascher die Mitosenfolge der einzelnen Tumorzelle, desto niedriger anscheinend die Sauerstoffdifferenz.

B. I.

Andere Autoren versuchten durch die selektive Speicherung, das heißt durch Anreicherungen tumoraffiner Substanzen in der malignen Geschwulst, gesundes Gewebe von dem des Blastoms abzugrenzen und damit eine Frühdiagnose zu erzielen.

In neuerer Zeit erschien die Verwendung radioaktiver Isotope zu diesem Zweck besonders erfolgversprechend, da diese sich auf Grund der außerordentlichen Empfindlichkeit der Nachweismethoden selbst in geringster Konzentration bestimmen lassen. Auf diese Weise war es möglich zu zeigen, daß die radioaktiven Isotope im Tumor stärker angereichert werden als im gesunden Gewebe. So hat sich das Radio-Jod bei Schilddrüsentumoren ausgezeichnet bewährt (63). Desgleichen erfährt der Radio-Phosphor in der allgemeinen Tumordiagnostik eine günstige Beurteilung, wobei dieses Element nur bei oberflächlichen Prozessen angewendet werden kann (Hautcarcinom, Fibrosarkom, Hodentumor), da es in seiner Eigenschaft als β -Strahler nur eine Durchdringungstiefe von 8-11 mm aufweist (28, 33, 67, 72, 73). Von den anderen strahlungsaktiven Stoffen ist das Kalium-Isotop K^{42} (96) auf seine Verwendbarkeit besonders in der Hirntumordiagnostik geprüft worden. Es zeigte sich, daß die Speicherung in der Nackenmuskulatur sehr hoch ist und daher eine Diagnostik von Geschwülsten in der Fossa posterior Schwierigkeiten bereitet. Als nachteilig stellte sich noch die relativ kleine Halbwertszeit von 12,4 Stunden in diesen Versuchen heraus. MOORE und Mitarbeiter (80) haben die Isotopenencephalographie bei Hirntumoren seit 1947 ausgebaut, und es gelang ihnen eine exakte Hirntumordiagnostik mit 92 % richtigen positiven und nur 5 %

falschen negativen Resultaten. Auch sind das Natrium-Dijod¹³¹-Fluorescein und das Dijod¹³¹-Deuteroporphyrin (34) in die Untersuchungen einbezogen worden, jedoch konnten wegen technischer Schwierigkeiten keine statistisch brauchbaren Ergebnisse erzielt werden. Über Jod¹³¹-etikettiertes Albumin besteht noch kein abschließendes Urteil (81). In einer noch nicht abgeschlossenen Arbeit soll nach DOBRINER und Mitarbeiter (96) das Radio-Gallium verwendbar sein. Auch radioaktiv etikettierte organische Indikatoren wurden zur Diagnose maligner Prozesse herangezogen. Sie scheinen für die Zukunft aussichtsreich zu sein, da die Zahl der Etikettierungsmöglichkeiten organischer Substanzen noch nicht zu übersehen ist.

II.

Auf Anregung von Professor DYROFF

wurde in unserer Klinik die mit dem Problem der Speicherung von tumoraaffinen Farbstoffen eng verknüpfte Frage der Ausscheidung solcher Farbstoffe erneut aufgegriffen. Es war Zweck dieser Arbeit, die Angaben, die speziell über die Ausscheidung von Atebrin vorliegen, zusammenzustellen und zu prüfen, ob die Fehlerbreite bei der Bestimmung der durch den Harn ausgeschiedenen Atebrinmengen mittels Absorptionsmessungen so gering ist, daß sich hierauf eine sichere Krebsdiagnose für die Gynäkologie aufbauen läßt.

1.)

Die Speicherung von tumoraaffinen Farbstoffen ist eine nicht so neue Erkenntnis, wie es nach den Berichten der neueren Autoren zunächst den

Anschein hat. A. WASSERMANN, KEYSSER und M. WASSERMANN (106) berichteten im Jahre 1911 erstmals über tumoraaffine Eigenschaften bestimmter Farbstoffe, und man glaubte zunächst, auf diesem Wege neue Möglichkeiten zur Therapie von Neoplasmen ausarbeiten zu können. So hat zum Beispiel A. WASSERMANN versucht, das Fluorescein als Transportmittel für das toxische Selen, dem eine hemmende Wirkung auf das Tumorstadium zugeschrieben wurde, zu benützen. Aber auch von den Farbstoffen selbst wurde eine zum Teil starke cytostatische Wirkung angenommen, und man war der Ansicht, daß bei einer entsprechend hohen Dosierung eine Hemmung des Tumorstadiums eintreten könnte, was vorwiegend an Tieren mit Isaminblau sowie unter anderem mit einigen Acridinfarbstoffen versucht wurde. LEWIS und GOLAND (70) stellten fest, daß vor allem Atebrin und Trypaflavin auf das Tumorstadium bei Tumormäusen einen deutlich hemmenden Einfluß haben. Sie konnten zeigen, daß Atebrin einerseits den Tumor deutlich anfärbte, andererseits aber auch die Zahl der Mitosen im Tumorgewebe stark verminderte. Der Effekt war jedoch so gering, daß eine Behandlung von Neoplasmen des Menschen keinen Erfolg versprach. Außerdem waren die verwendeten Farbstoffe in der hierzu notwendigen ungewöhnlich hohen Dosierung allgemein toxisch wirksam.

Erst vor wenigen Jahren wurde von amerikanischer Seite auf diese Erfahrung von WASSERMANN und KEYSSER zurückgegriffen. MOORE, SHAPIRO, LANDING (82, 92) und andere verwendeten das Fluorescein-natrium zur Darstellung von Tumorgewebe, indem sie durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht den im Tumor angereicherten Farbstoff zur Fluoreszenz anregten. Auf diese Weise konnten sie in einem Teil der Fälle eine Differenzierung zwischen krankem und gesundem Gewebe erreichen. Außerdem wurde noch von denselben

Autoren versucht, neue diagnostische Möglichkeiten durch Markierung des Fluoresceins mit radioaktiven Isotopen auszuarbeiten.

HLISNIKOWSKI (Krebstagung Innsbruck, 2. - 4.6.1954, 61. Vortrag) fand in Nativblutausstrichen schon 30 Sekunden nach der Atebrininjektion den Farbstoff granular im Plasma der Leukozyten und Thrombozyten und damit in den Zellbereichen gespeichert, in denen sich die Oxydations- und Reduktionsvorgänge abspielen. Die Fluoreszenzintensität nahm gesetzmäßig mit der Zeit post injectionem ab, und indem er die Zahl der leuchtenden zu den nichtleuchtenden Zellen zueinander in Beziehung setzte, fand er Kurven, welche beim Carcinom einen flachen protrahierten Verlauf zeigten.

Die stärkste Farbstoffabsorption erfolgt nach K. ADERHOLD (6) in den Nukleoproteiden des Zellkerns. Mit Atebrin läßt sich intravital, supravital und am formolfixierten Gewebsschnitt, ebenso am Sputummaterial und an Punktaten eine weitgehende elektive Anreicherung in allen Zellkernen, den neoplastischen, aber auch in Zellkernen normaler Zellen erzielen, die an kräftiger Fluoreszenz an diesen Orten kenntlich wird. Während alle Kerne intensiv gelb leuchten, fluoresziert das Cytoplasma gelblich-grün bis grün. Zum Auffinden neoplastischen Gewebes eignet sich seiner Meinung nach die Fluorochromanreicherung mit Atebrin jedoch nicht, da sowohl das Tumorgewebe, wie auch das gesunde Gewebe mehr oder weniger elektiv speichern.

Zahlreiche Theorien wurden bisher entwickelt, um eine Erklärung für die tumoraffinen Eigenschaften bestimmter Farbstoffe zu geben. BOYLAND, LUDFORD, McCLEAN, DURAN-RAYNALS (zit. nach CRAMER) und andere betrachteten die verstärkte Ablagerung bestimmter Farbstoffe im Tumorgewebe als die Folge einer pathologisch veränderten Permeabilität der Blutgefäße des Neoplasmas. Diese Vermutung wurde durch die Untersuchungen von ZAHL, WATERS und andere bestätigt (zit.

nach CRAMER), die zeigen konnten, daß die Speicherung der Farbstoffe nicht in der Tumorzelle selbst, sondern im perivaskulären Stroma erfolgt. Eine andere Erklärung fand CASPERSON (26). Er stellte fest, daß die Färbbarkeit der Zellen von ihrem Teilungsstadium, das heißt von ihrem Gehalt an Pentosenukleotiden im Cytoplasma abhängig ist. Da aber besonders die Chromosomen der Metaphase reich an Nukleinsäuren sind, lassen sie sich gut mit basischen Farbstoffen anfärben. Zu erwähnen sind hier vor allem die Untersuchungen von FEULGEN (41) und WAGNER-JAUREGG (104), die salzartige Verbindungen zwischen Nukleotiden und Acridinen nachweisen konnten. Über entsprechende Ergebnisse berichtet BAUCH (zit. nach CRAMER und BRILMAYER) bei Versuchen mit Trypaflavin. ALBERTH, BULBO und DAVEY (10) sind der Meinung, daß die basischen Seitenketten des Atebrins für den Speicherungseffekt im Tumor verantwortlich seien. Nach BATES und KERSHMAN (zit. nach CRAMER und BRILMAYER) sind die enzymatischen Prozesse bei der Umwandlung der Tumorzellen für die Selektivfärbung von Bedeutung. Sie glauben nur an eine lockere Anlagerung des Farbstoffes an die Tumorzellen. JACOBY (zit. nach CRAMER und BRILMAYER) stellte fest, daß jede Veränderung des Organgewebes, und zwar gleichgültig, ob es entzündlich, neoplastisch oder degenerativ auch eine veränderte Ablagerung von Farbstoffen gegenüber dem biologisch gesunden Gewebe zur Folge hat.

2.)

Ohne daß im einzelnen zu diesen verschiedenen Ansichten über die Frage der Speicherung tumoraffiner Farbstoffe Stellung genommen werden soll, muß jedoch festgehalten werden, daß, wenn eine selektive Speicherung tatsächlich vorhanden ist, es folgerichtig auch zu einer verzögerten Ausscheidung des Farbstoffes kommen muß. Zum Nachweis der Ausscheidung im Harn stehen zwei Methoden zur Verfügung:

- 1.) Die Bestimmung der Fluoreszenz nach Farbe und Intensität und
- 2.) die Bestimmung der ausgeschiedenen Mengen durch Absorptionsmessung.

Während normaler Harn im ultravioletten Licht blau fluoresziert, erscheint Atebrin, das aus alkalisch gemachten Harn in Amylalkohol aufgenommen wurde, mit gelblicher bis grüner Fluoreszenz. Durch Vergleich der Fluoreszenzintensität der Probe mit derjenigen reiner Atebrin-Amylalkohol-Lösungen verschiedener bekannter Konzentrationen konnte HLISNIKOWSKI (54) Mengen bis zu 0,001 μ /ccm bestimmen.

Die Messung der Fluoreszenzintensität mit einer speziell für diesen Zweck entwickelten Anordnung hat jedoch, wie BECKER (14) zeigen konnte, zur Voraussetzung, daß weder das Lösungsmittel eine Eigenfluoreszenz besitzt, noch "störende Zusätze" wie Blutfarbstoff, Gallenfarbstoff oder Fette Fehlmessungen verursachen. Es soll nach einer von ihm ausgearbeiteten Methode der Rückgewinnung des Atebrins durch Fällung der Base und anschließende Lösung in $n/10$ Salzsäure möglich sein.

Neben diesem Nachweis durch Fluoreszenz steht die Bestimmung kleiner Mengen des ausgeschiedenen Farbstoffes durch spektralphotometrische Absorptionsmessungen. Es handelt sich hierbei darum, daß das typische Farbstoffspektrum der Harnabsorptionskurve überlagert ist, woraus sich unter gewissen Umständen ein Nachweis ableiten läßt. H. CRAMER, C. BRILMAYER und Mitarbeiter (24, 25, 28-32, 69) haben die Verwendbarkeit von Eosin, Natriumfluorescein, Trypaflavin und Atebrin geprüft. Nach deren Angaben ist besonders das Atebrin zur Durchführung solcher Versuche geeignet. Auf Grund des zeitlichen Verlaufes der nach einer einmaligen intravenösen Injektion von 0,1 g nachgewiesenen Atebrinausscheidung glauben auch diese Autoren, eine Carcinomdiagnose aufbauen zu können.

III.

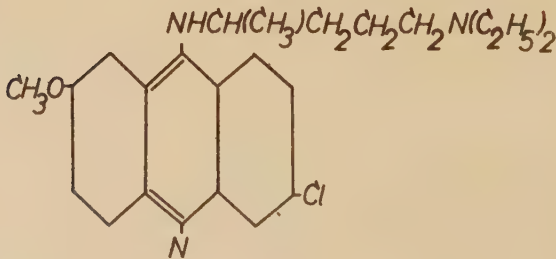
Bei der großen Bedeutung, die der Früherkenntnis des Carcinoms zukommt, ist es eine selbstverständliche Pflicht, jede Methode, die erhoffen läßt, diese Krankheitsgeschehen rechtzeitig zu erkennen, aufzugreifen und sie methodisch so zu unterbauen, daß zahlenmäßig gesicherte Angaben gewonnen werden können. Aus diesem Grund hielten wir es für erforderlich, die von CRAMER, BRILMAYER und auch von anderen Autoren angegebenen Resultate, die sich in vielen Punkten unterscheiden, von uns aus zu untersuchen. Sie sollen im Zusammenhang mit unseren Ergebnissen diskutiert werden.

1.)

Bevor aber über eigene Ergebnisse berichtet wird, soll hier noch einiges über die Chemie und Pharmakologie des Atebrins ausgesagt werden.

Die Atebrin-Base, ein bei gewöhnlicher Temperatur eigelbes Pulver, ist chemisch 2-methoxy-6-chlor-9 α -diaethyl-amino- δ -pentyl-amino-acridin. Es wird bei ultraviolettem Licht zu lebhafter Fluoreszenz angeregt.

Abb. 1



Das Atebrin pro injektionen, welches bei den Versuchen zur Frühdiagnose des Carcinoms zur Anwendung kommt, ist Atebrin-di-methansulfat (Atebrin-Musonat). Es ist in Wasser außerordentlich leicht löslich. Die Gehaltsangaben auf den Ampullen sind auf das Atebrin-Dichlorhydrat bezogen, welches bei der oralen Therapie zur Anwendung kommt. 0,125 g Atebrin pro injektionen entsprechen an wirksamer Substanz 0,1 g Atebrin-Dichlorhydrat.

Das Atebrin ist sehr gut verträglich und macht, in therapeutischen Dosen angewendet, keinerlei Nebenerscheinungen (Schwindel, Ohrensausen, Augenflimmern, Handzittern, Herzklopfen, Sensibilisierung der Haut gegen Licht) und ist ungefährlich. Bei der intravenösen Injektion ist unbedingt darauf zu achten, daß die Dosis von 0,1 g Atebrin, in 3 ccm sterilem, destilliertem Wasser gelöst, nicht überschritten und langsam injiziert wird (Prospekt der Bayer-Werke, Leverkusen, 36). Der pH-Wert einer 1%igen Lösung des Atebrin-Dimethansulfats beträgt 4,9. Die basische Farbstoffnatur, ein starkes Diffusionsvermögen, sowie eine gute Lipoidlöslichkeit berechtigen uns, das Atebrin in die Körperklasse der Vitalfarbstoffe einzureihen. Tatsächlich lassen sich in vivo damit beinahe alle tierischen Gewebe mehr oder minder anfärben, es wird hauptsächlich in den Zellkernen elektiv angereichert, was an ihrer kraftigen Fluoreszenz erkenntlich wird. Auch im undifferenzierten Zellplasma einer großen Anzahl von Protozoen wird es selektiv gespeichert (therapeutische Wirkung des Atebrins bei Malaria) (49). Ins Blut gelangt, wird das Remedium rasch über den ganzen Körper verteilt und kann sehr bald in den einzelnen Organen festgestellt werden. Bemerkenswert ist dabei eine spezifische Verteilung innerhalb des Blutes. Es besteht vorwiegend eine Affinität zu den Erythrozyten, während es im Serum selbst nach großen Gaben oft nur eine so geringe Konzentration erreicht, daß es sich dem Nachweis entzieht (66).

Bedeutsam für die Beurteilung seiner Wirkungsmöglichkeit ist die auffallende Tendenz des Atebrins, rasch aus dem Blut zu verschwinden, was wohl mit seiner Farbstoffnatur zusammenhangt (basische Farbstoffe zeigen ganz allgemein dieses Verhalten) (108). Es wandert ziemlich unabhängig von sonstigen Faktoren (Höhe der Dosierung, Resorptionsbedingungen, Ausscheidung) sehr schnell in die Organe ab. Die Folge davon ist, daß Atebrin von denjenigen Organen bevorzugt aufgenommen wird, die es zunächst erreicht. So verhalten sich bei der intravenösen Darreichung die Atebrinmengen in Lunge, Niere und Leber wie 3:2:1. Freilich tritt mit der Zeit eine Korrektur dieser Verhältnisse in Richtung des Verhältnisses der spezifischen Affinität der einzelnen Organe zum Atebrin ein. Gerade diese Frage, wie sich die Verteilung des Acridinderivats im Organismus gestaltet, kann wichtige Fingerzeige für das Vorhandensein selektiver Wirkungen geben. Nach den grundlegenden Tierversuchen von G. Hecht (50, 51) besitzen eine ausgesprochene Speicherungstendenz gegenüber Atebrin (nach der Stärke der Speicherung geordnet) Lunge, Leber, Niere, Milz und Knochenmark, was dem steigenden Organ-pH entspricht, und wo sich allein 50 % der jeweils verabreichten Menge des Pharmakons wiederfinden. Im mittleren Niveau sind an der Speicherung stets beteiligt der Magen-Darmkanal, das Herz, Pankreas und die Generationsorgane. Alle übrigen Organe nehmen nur wenig auf.

Ein Abbau des Atebrins im Körper, der zu irgendwelchen analytisch faßbaren chemischen Produkten im Harn oder in den Nieren führen würde, konnte bislang nicht nachgewiesen werden. Naheliegender erscheint die Ansicht von W. WEISE (Kongreßbericht der Amsterdamer Tropen- und Malariakongresse 1933), der von einem Abbau des Moleküls zu Chlormethoxy-Acridon durch Abspaltung der basischen Seitenkette spricht. Nach älteren Untersuchungen FUEHNERS (47a) würde sich Atebrin als Acridinderivat

analog dem Benzol verhalten und sich unter Sauerstoffaufnahme und Wasseraustritt mit Schwefelsäure paaren, Weiterhin wäre daran zu denken, daß es sich als Pyridinderivat ähnlich dem Pyridin verhält und im Organismus über Methylacridiniumhydroxyd N-Methylacridon bildet, woraus schließlich durch Demethylierung Acridon entsteht. Zu Recht besteht daher die Vermutung, daß das Remedium zu einem Teil im Körper zerstört wird, weshalb sich aus den Exkrementen die eingenommenen Mengen in gleicher Quantität nicht mehr zurückgewinnen lassen. Zum anderen Teil verläßt aber Atebrin sicher chemisch unverändert wieder den Körper. Es wird hauptsächlich durch die Nieren und die Leber eliminiert und in Harn und Faeces zu ungefähr gleichen Teilen ausgeschieden (75, 103). Über den unverändert ausgeschiedenen, prozentualen Farbstoffanteil gehen die Meinungen auseinander. Während WEISE 10-30 % angibt, sind es nach KEHAR (zit. nach HECHT (50)) sogar 50-70 %, nach BINGOLD (18) im Harn nicht einmal 4 %. Die Ausscheidung geht langsam vonstatten und zieht sich über eine große Zeitspanne hin. Es sinkt rasch auf ein wesentlich niedrigeres Niveau ab, das dann während längerer Zeit aufrecht erhalten bleibt. Es neigt also zur Kumulation.

Nach der BETHE-schen Theorie der Vitalfärbungen, die sich auf wohlfundierte Froschexperimente stützt, müßte eine Verschiebung des Gewebe-pH's nach der sauren Seite eine verstärkte Kumulation (durch vermehrte Speicherung im Gewebe und konsekutiv verzögerte Ausscheidung) von Atebrin nach sich ziehen. Tatsächlich wurde es von RONNEFELD (90) bei Rachitis, von SONI (94) nach Glykogenmangelzuständen (Erschöpfung, fieberhafte Infektionen), von GREEN (48) nach vorwiegender Fleischkost beobachtet. Auch müßte die Gravidität, die auch ein acidotischer Zustand ist, zur Kumulation disponieren. Zu erwähnen wäre noch, daß bei kleinen bis mittleren Atebringaben im Tierversuch das Gehirn stets frei vom Pharmakon gefunden wird.

2.)

Aus allen Literaturangaben geht schon hervor, daß es sich nur um den Nachweis sehr geringer Mengen Atebrin handeln kann, die nach einer einmaligen Injektion von 0,1 g (entsprechend 0,125 g Atebrin-Musonat) durch den Harn ausgeschieden werden. Dies erfordert, daß die Möglichkeiten und Grenzen, die von der physikalischen Seite her jeder Nachweismethode gesetzt sind, beachtet werden müssen.

a.)

Bei allen Fluoreszenzuntersuchungen sind allgemeine Gesichtspunkte, sowie gewisse Vorbedingungen chemischer Art zu berücksichtigen, um systematische Fehler zu vermeiden (62). Wichtig sind vor allem die Konstanz von Temperatur, Wasserstoffionenkonzentration, Zusammensetzung der Lösungen sowie der Anregungsbedingungen. Auch können bei fluoreszierenden Stoffen schon durch geringe, aber stark fluoreszierende Beimengungen oder durch fluoreszierende Lösungsmittel beträchtliche Fehler entstehen. Andererseits ist es gar nicht selten, daß die Fluoreszenz durch Fremdstoffe gelöscht werden kann, wobei ganz spezifische Wechselwirkungen auftreten. Außerdem wird fast stets eine sogenannte "Konzentrationslöschung" beobachtet. Die Intensität des Fluoreszenzlichtes nimmt bei genügend hoher Intensität der Erregerstrahlung nicht monoton mit steigender Konzentration des fluoreszenzfähigen Stoffes zu, sondern geht durch ein Maximum und nimmt dann wieder ab, ohne daß das Fluoreszenzlicht von der Lösung reabsorbiert wird.

Trotz dieser grundsätzlichen Bedenken wurde der Versuch gemacht, durch eine Beobachtung mit dem unbewaffneten Auge vor einer Fluoreszenzanalysenlampe das Vorhandensein von Atebrin festzustellen. In einer reinen Lösung des Farbstoffes erreicht die Atebrinfluoreszenz bei einer Verdünnung von 1:10 000 (1 000 μ /ccm) ihre größte Intensität und nimmt dann

allmählich ab. Weniger als 2 μ /ccm (1:500 000) konnten nicht mehr sicher nachgewiesen werden. Im Harn als Lösungsmittel war jedoch bei einer geringeren Atebrinkonzentration als etwa 10 μ /ccm ein Unterschied zwischen dem gelblich-grün fluoreszierenden Farbstoff und der blaulichen Eigenfluoreszenz des Harns nicht mehr zu erkennen. Dazu kommt unter anderem noch die Störung der Erkennbarkeit durch die Fluoreszenz des Glases.

Ob es möglich ist, eine wesentlich höhere Genauigkeit dadurch zu erreichen, daß die Fluoreszenz des gelösten Atebrins unter Zuhilfenahme spektraler Filter gegenüber der Fluoreszenz der "Lösung" durch ein objektives, photometrisches Verfahren gemessen wird, muß bezweifelt werden, da keineswegs von einer konstanten Zusammensetzung der Lösungen gesprochen werden kann.

- b.) Der quantitative Nachweis geringer Farbstoffmengen durch Absorptionsmessung ist eine in Forschung und Praxis häufig verwendete Methode. Dazu ist erforderlich, daß die nachzuweisende Substanz entweder eine im Sichtbaren oder im Ultravioletten liegende charakteristische Eigenabsorption besitzt, oder daß diese mittels einer geeigneten Reaktion meist unter gleichzeitiger Erhöhung der Extinktion in einen der Messung leichter zugänglichen Wellenlängenbereich verschoben wird. Aus dem Vergleich der maximalen Extinktionen der charakteristischen Absorptionsbanden der zu bestimmenden Lösung mit derjenigen einer reinen Lösung bekannter Konzentration läßt sich die Konzentration des Farbstoffes ermitteln. Liegen Stoffgemische mehrerer (2-5) bekannter Substanzen vor, deren charakteristische Banden bezüglich ihrer Schwingungszahl deutlich voneinander getrennt werden können, lassen sich auf Grund der Absorptionskurven der Mischung die Konzentrationen der einzelnen Substanzen auf graphischem oder rechn-

rischem Wege berechnen. Ist jedoch der Farbstoff in einer Lösung unbekannter Zusammensetzung gelöst, so können unter anderem kleinere Mengen noch exakt bestimmt werden, wenn die Möglichkeit besteht, Differenzmessungen zwischen Farbstofflösung und "reiner" Lösungsmittel vorzunehmen.

Im vorliegenden Fall handelt es sich jedoch darum, das Atebrin nachzuweisen, das mit dem Harn ausgeschieden wird. Wieweit dies möglich ist, soll an Modellversuchen gezeigt werden, bei denen der Farbstoff nachträglich verschiedenen "normalen" Harnen zugesetzt wurde. Die Voraussetzung dafür ist, daß sowohl das reine Atebrinspektrum als auch die Absorptionskurven des Harns bekannt sind.

Sämtliche Messungen wurden - wie auch von CRAMER und BRILMAYER - mit dem Beckman-Spektrophotometer bei einer Schichtdicke von 1 cm als Relativ-Messung, das heißt zur Ausschaltung der Eigenabsorption der Küvetten, Reflexionsverluste und so weiter, gegen eine mit Aqua bidestillata gefüllte Küvette durchgeführt. Jeweils mit 10 m μ Abstand, in der Nähe von Wendepunkten der Kurve mit 5 m μ , wurde das Absorptionsspektrum der Lösungen in dem Wellenlängenbereich zwischen 350 und 530 m μ bei möglichst hoher Empfindlichkeit und damit möglichst geringer spektraler Bandbreite aufgenommen. Diese betrug bei 350 m μ und 0,04 mm Spaltbreite, sowie bei 530 m μ und 0,01 mm Spaltbreite je 0,25 m μ .

In den nachfolgenden Kurven ist direkt der für 1 cm Schichtdicke gemessene Extinktionskoeffizient ϵ gegen die Wellenlänge aufgetragen. Die Meßgenauigkeit betrug bei kleinen und mittleren Extinktionen, das heißt bei ϵ bis zu etwa 0,300, 3 Einheiten der dritten Stelle hinter dem Komma, bei hohen Extinktionswerten, also etwa 0,800 und größer, sinkt sie auf 5-10 Einheiten der letzten Stellen.

Das Absorptionsspektrum einer reinen Atebrin-Musonat-Lösung in Aqua bidestillata (Abb. 2) zeigt 2 typische Maxima bei 420 und 442 $m\mu$ mit einem dazwischen liegenden flachen Minimum.

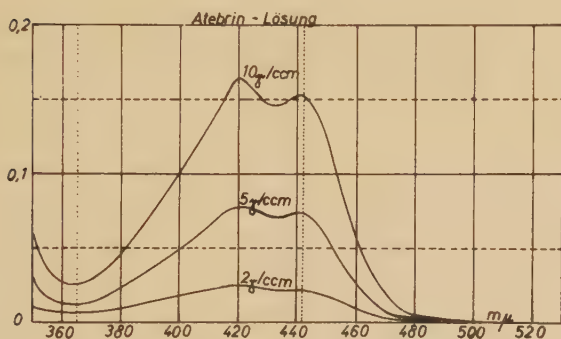


Abb. 2

Ein weiteres Minimum liegt bei 365 $m\mu$. Für eine Lösung von 10 g/ccm Atebrin-Musonat ist der Extinktionskoeffizient bei 365 $m\mu$ $\epsilon = 0,028$, bei 420 $m\mu$ $\epsilon = 0,165$ und bei 442 $m\mu$ $\epsilon = 0,155$. Da die maximalen Extinktionen verschieden konzentrierter Lösungen innerhalb der Versuchsfehler ihren Konzentrationen proportional sind, ist das Lambert-Beer'sche Gesetz praktisch erfüllt. Die oben aufgeführten Meßwerte beziehen sich auf eine frisch bereitete Atebrin-Lösung. Es ist zu beachten, daß nach weniger Stunden bereits eine Zersetzung eintritt, die eine Abnahme des Extinktionskoeffizienten zur Folge hat. Bei derselben Lösung betrug zum Beispiel nach 15 Stunden bei 420 $m\mu$ $\epsilon = 0,136$.

Bei jeder Absorptionssmessung fluoreszierender Substanzen muß außerdem mit einer Erniedrigung des Extinktionskoeffizienten gerechnet werden, da der Farbstoff durch das spektrale Licht zur Fluoreszenz

angeregt und diese von der Photozelle zusätzlich registriert wird. In den in Frage kommenden Wellenlängenbereichen scheint aber die Intensität des Fluoreszenzlichtes sehr gering zu sein, da bei Messungen mit zwei Photozellen verschiedener Empfindlichkeit keine Unterschiede festzustellen waren.

In der Abb. 2 ist ferner zu erkennen, daß schon in der reinen Atebrin-Lösung bei einer Konzentration von $2\frac{1}{2}$ /ccm die beiden typischen Banden nur noch ganz schwach ausgeprägt sind. Trotzdem kann in einer sicher reinen Lösung durch Messung der maximalen Extinktion bei $420\text{ m}\mu$ noch eine Menge von $0,5\frac{1}{2}$ /ccm quantitativ bestimmt werden, da die gemessene Extinktion nicht kleiner ist als die dreifache Ableseungenauigkeit. Eine Identifizierung dieser Atebrinmenge in einem Gemisch ist jedoch nur dann möglich, wenn ausgeschlossen werden kann, daß keine andere Substanz mit einer in diesem Gebiet vergleichsweise überhöhten Absorption mit in Lösung gegangen ist.

Wegen der stets wechselnden Wasserstoffionenkonzentration des Harns ($\text{pH} = 4,8-7,4$; im Mittel $6,0$) wurde mit Pufferlösungen geprüft, ob der Verlauf der Absorptionskurve des Atebrins sich bei verschiedenen pH-Werten ändert. Ein Einfluß des pH-Wertes im Bereich zwischen $4,0$ und $7,0$ konnte nicht festgestellt werden.

Wie nicht anders zu erwarten war, unterschieden sich die Absorptionsspektren von normalen, das heißt ohne Injektion im Kontrollversuch gemessenen Harnen ganz erheblich. Abb. 3 bringt 6 Kurven, die beliebig aus einer großen Anzahl herausgegriffen wurden. Die Extinktionen nehmen mit abnehmender Wellenlänge stark zu; besonders auffällig sind die offenbar durch Konzentrationsunterschiede bedingten Differenzen zwischen den einzelnen Kurven. Bei zwei Spektren (1 und 3)

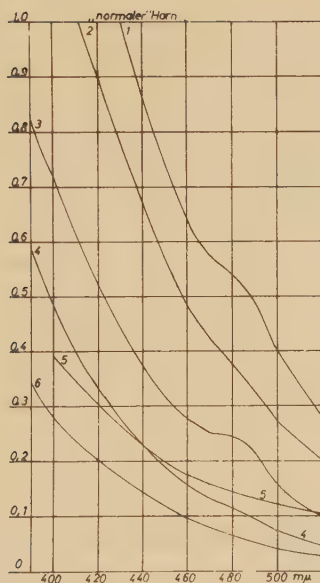


Abb. 3

erkennt man die Anwesenheit einer Substanz, die eine Absorptionsbande bei 490 mμ besitzt (69, 70).

Wenn die Zusammensetzung des Harns konstant wäre und ausschließlich Konzentrationsunterschiede die Größe der spektralen Extinktionswerte bestimmen würden, müßten bei einer logarithmischen Aufzeichnung der Extinktionen alle Absorptionskurven parallel verlaufen. Daß dies in keiner Weise der Fall ist, zeigt die Abb. 4, die nur eine Umzeichnung der Abb. 3 darstellt.

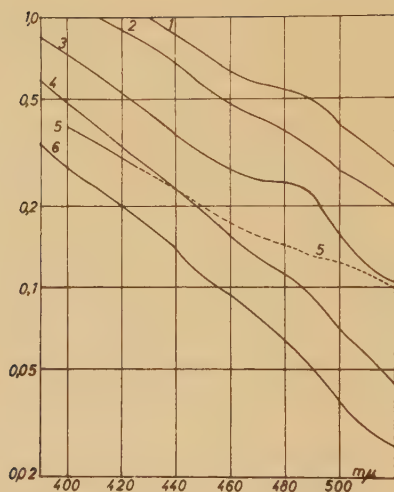


Abb. 4

Es entsteht nun zuerst die Frage, wie weit das Atebrin im Modellversuch, das heißt, wenn es künstlich einem in seiner spektralen Absorption bekannten Harn zugesetzt wird, quantitativ wiedergefunden werden kann. Zu diesem Zwecke wurden je 1,0 ccm, 0,5 ccm und 0,2 ccm einer reinen Atebrin-Lösung 1:10 000 9 ccm Harn zugesetzt und mit Aqua bidestillata auf 10,0 ccm aufgefüllt, so daß der ursprüngliche Harn 9:10 verdünnt war und damit die Atebrin-Konzentrationen 10 μ /ccm, 5 μ /ccm und 2 μ /ccm betrugen. Gemessen wurde sowohl gegen Aqua bidestillata als auch in Differenz zwischen reinem und angefärbtem Harn.

Abb. 5 zeigt als Ergebnis dieses Modellversuches die gegen Wasser gemessenen spektralen Extinktionen: die unterbrochene Kurve ist diejenige des unverdünnten Harns, Kurve 0 des Harns 9:10, die übrigen diejenigen der Mischungen. Die Differenzen der Extinktionswerte bei 420 mμ zwischen reinem Harn und Mischung

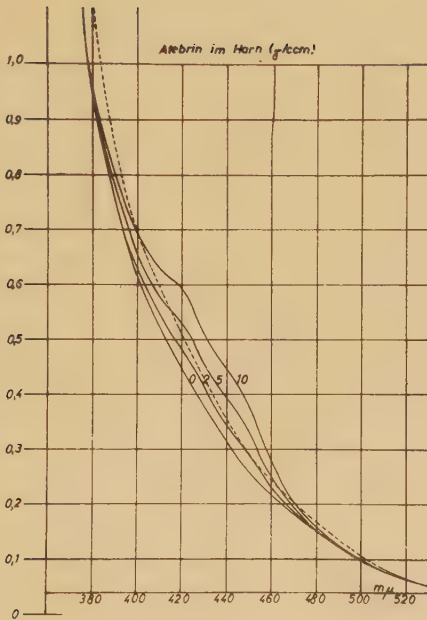


Abb. 5

ergeben für 10 g/ccm $\epsilon_{\text{Diff}} = 0,143$, für 5 g/ccm $\epsilon = 0,073$ und für 2 g/ccm $\epsilon = 0,027$. Im Vergleich mit den maximalen Koeffizienten der reinen 10 g/ccm-Atebrin-Lösung $\epsilon_{420} = 0,165$ wurden damit in allen drei Fällen anscheinend nur 85 % des zugesetzten Atebrins wiedergefunden.

Bei weiteren Versuchen, bei denen Harnen verschiedener Konzentrationen 10 g/ccm zugesetzt wurde, entsprach die gemessene Differenz der gesamten reinen Atebrin-Menge. Die Abweichung beim ersten Versuch ist darauf zurückzuführen, daß nicht auf das Alter der Farbstofflösung geachtet worden war, das heißt, daß sich die Atebrin-Lösung schon vor dem Zusatz teilweise zersetzt hatte.

Es ist außerdem bemerkenswert, daß obwohl gleiche Mengen Atebrin zwei Harnen verschiedener Konzentration zugefügt wurden, in den resultierenden Absorptionskurven (Abb. 6) die Maxima bei dem Harn geringer Konzentration deutlicher ausgeprägt erscheinen als bei dem mit großer Eigenabsorption.

In der Darstellung der Kurven der Abb. 6 im logarithmischen Maßstab (Abb. 7) bedingen die verschiedenen Harnkonzentrationen zwar einen verhältnismäßig ähnlichen Verlauf der Eigenabsorption der Urine, die Extinktionswerte des zugesetzten Atebrins erscheinen jedoch als rein additive Größen je nach dem Konzentrationsbereich in mm gemessen unterschiedlich groß.

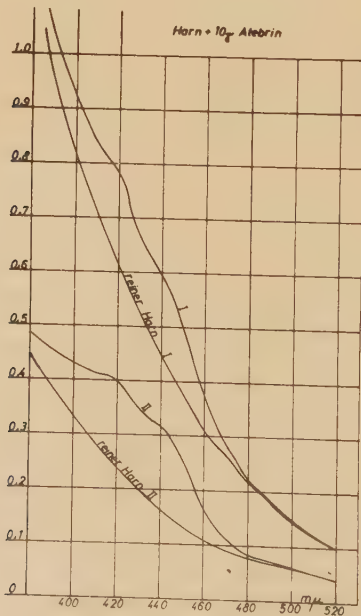


Abb. 6

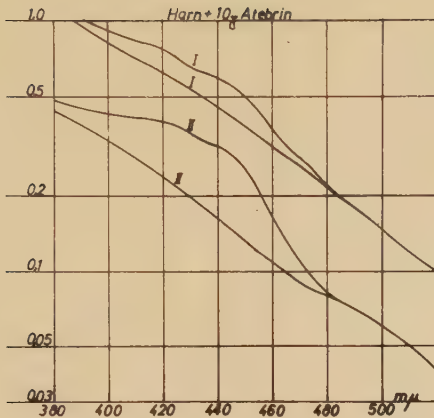


Abb. 7

3.)

Im Hinblick darauf, daß bei Messungen an Harnen von Personen, denen vorher Atebrin injiziert worden war, nur eine Summenabsorptionskurve vorliegt, muß daher folgendes festgehalten werden:

1.) Da die Eigenabsorption des Harns nicht bekannt ist, ist es nicht möglich, das Atebrin quantitativ und exakt dadurch zu bestimmen, daß unter die gemessenen Kurven ein Grundabsorptionsspektrum eingezeichnet und der maximale Extinktionskoeffizient als Differenz der beiden Werte bei 420 $m\mu$ berechnet wird. Dies gilt sowohl für eine Darstellung im dekadischen, als auch im logarithmischen Maßstab.

2.) Dem Versuch, das Vorhandensein von Atebrin aus dem optischen Eindruck des Verlaufs der Kurven zu erschließen (vergleiche dazu Abb. 5-7) und darüber hinaus noch die Mengen des gelösten Atebrins auch nur schätzungsweise anzugeben, ist entgegenzuhalten, daß:

- a.) schon im Modellversuch nur bei verhältnismäßig großen Atebrinmengen die beiden Banden bei 420 und 442 $m\mu$ deutlich zu erkennen sind.
 - b.) der optische Eindruck täuscht, da bei der gewöhnlichen Darstellung bei geringen Konzentrationen die Banden trotz gleicher Atebrinmenge stärker ausgeprägt sind als bei hohen Konzentrationen. Eine logarithmische Aufzeichnung führt hier ebenfalls nicht zum Ziel.
 - c.) bei kleinen Atebrinkonzentrationen in der Größenordnung von 2-4 μ in der Summenabsorptionskurve die Maxima so wenig ausgeprägt sind, daß sie selbst im Modellversuch nur eine Unstetigkeit im Verlauf der Kurve hervorrufen, die ebensowohl durch die Eigenabsorption des Harns bedingt sein kann.
 - d.) es noch viel weniger berechtigt ist, aus dem Erscheinen einer "einzelnen kleinen, jedoch scharf umschriebenen Erhebung" etwa bei 450 $m\mu$ auf Atebrinspuren zu schließen (18). Genausowenig ist es berechtigt, Absorptionskurven so zu zeichnen, daß die mit großen Abständen (10 $m\mu$) gemessenen Extinktionswerte unstetig verbunden werden, da dies in keiner Weise den theoretischen Vorstellungen über die Lichtabsorption in Medien entspricht.
- 3.) Obwohl aus den oben ausführlich dargelegten Gründen hervorgeht, daß der exakte Nachweis des Atebrins durch eine einfache Bestimmung des Absorptionsspektrums des ausgeschiedenen und nicht weiter präparierten Harns nicht möglich ist und auch eine qualitative Beurteilung des Verlaufs der Kurven sehr vielen Fehlermöglichkeiten unterworfen und damit sehr anfechtbar ist, habe ich trotzdem versucht, diesen "optischen Test" anzu-

wenden, um vergleichbare Aussagen mit den Angaben anderer Autoren zu gewinnen.¹⁾

Bei den Ausscheidungsversuchen an Gesunden oder Kranken wurden die vorliegenden Kurven so bewertet, daß nur in den Fällen, in denen die beiden Maxima bei 420 und 442 $m\mu$ "deutlich sichtbar" sind, eine positive Ausscheidung angenommen wird. Es mag dabei dahingestellt sein, ob unter sehr günstigen Umständen die beiden "deutlich sichtbaren" Banden tatsächlich einer wirklich vorhandenen Menge von 5 oder 10 μ entsprechen. Alle übrigen Fälle müssen als Versager betrachtet werden, obwohl vielleicht einige μ Atebrin vorhanden gewesen sein könnten.

An vier beliebig aus dem vorhandenen Material ausgewählten Beispielen soll die Bewertung der Ausscheidungskurven erläutert werden. In den Kurven a und b der Abb. 8 sowie in a der Abb. 10 sind die beiden Maxima bei 420 und 442 $m\mu$ gut zu erkennen. Wie angenommen wird, daß diese beiden Banden auf die Anwesenheit von Atebrin schließen lassen, wäre in diesen Fällen die Ausscheidung als positiv zu bezeichnen. In Abb. 9 sind zwar ebenfalls gewisse Schwankungen in diesen Wellenlängenbereichen zu beobachten. Sie sind jedoch so wenig ausgeprägt, daß sie wie die Mehrzahl der Kurven nicht verwertet werden können, bei denen noch viel weniger etwas darüber ausgesagt werden kann, ob noch Spuren von Atebrin vorhanden sind oder nicht. Sie werden daher als Versager betrachtet.

1) Es soll darauf hingewiesen werden, daß der Harn spätestens nach 1 Stunde gemessen wurde, um eine Zersetzung des Harns und des Atebrins auszuschließen.

Die Extinktionskurven b, c, d der Abb. 10, d der Abb. 8 und alle Kurven der Abb. 11 zeigen eine weitere Bande bei $490\text{ m}\mu$, die Kurve a der Abb. 11 außerdem noch eine zwischen 505 und $510\text{ m}\mu$, die darauf schließen lassen, daß noch andere selektiv absorbierende Substanzen vorhanden sind.

Die Messungen, bei denen der Versuch gemacht wurde, den zeitlichen Verlauf der Atebrinausscheidung zu verfolgen, erstreckten sich insgesamt auf 100 Personen. Davon waren 25 Gesunde, 47 Nicht-Carcinomträger und 28 Krebskranke mit histologisch gesicherten Tumoren. Die Urine wurden teilweise bis zu 45 Stunden nach der intravenösen Atebrin-Injektion kontrolliert. Das Ergebnis ist in den Tabellen zusammengefaßt, in denen der positive Ausfall als +, der fragliche als ? und die Versager als - bezeichnet werden. Dabei bedeutet jedes Zeichen eine Einzelbestimmung.

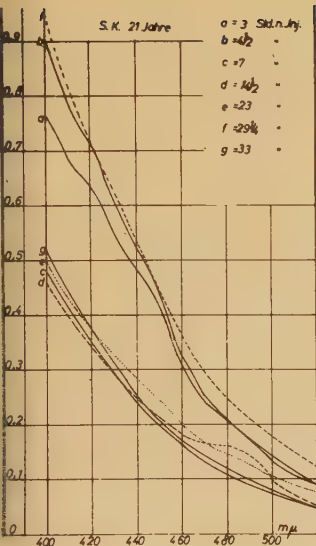


Abb. 8

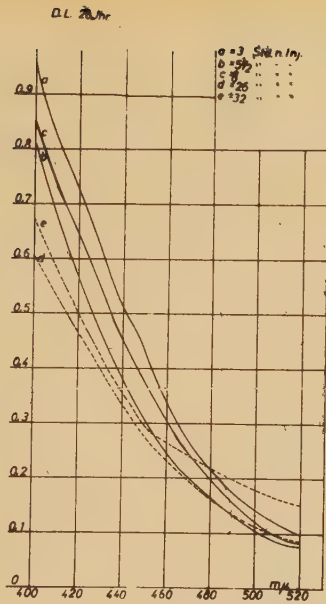


Abb. 9

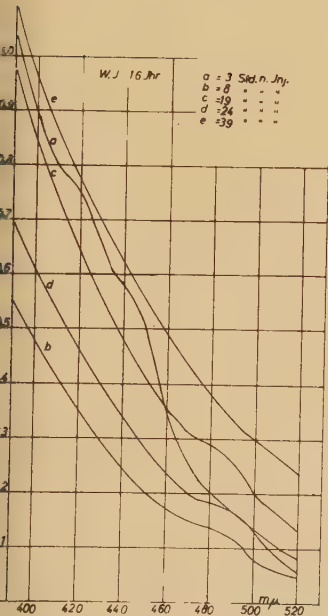


Abb. 10

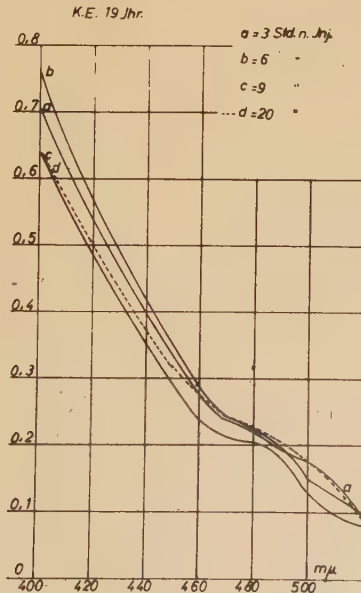


Abb. 11

Atebrin-Ausscheidung in Stunden bei klinisch Gesunden:

Nr.	1 ^{1/2}	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	22	24	26	29	30	32	über 32 ¹
1			?		-			?					?							-				-			
2			?			-								-						-			-				-
3			?		-					-					-									-			
4				-	-					-					-					-					-		
5				+	-			?			-					-											
6		+		?				-												-							
7				?		+					-				-				-						-		
8		?		-	-			-			-												-				
9				?				-						-		-											
10			+	-	-			-						-						-							
11				-			+	+						-													-
12				-	-			-						-													
13				+		-					-					-					-						
14				-		-		-						-													
15				-	-	-		-						-						-							
16			?		?			-						-													
17				?		-				-									-								
18				+	+		-			-																	
19				-		-								-						-					-		
20			?			?				-											-					-	
21				-			-							-						-							
22				+		+	-								-												
23				+				-												-							40 Std.-
24				?	-	-					-									-							41 " "
25				?		-		-				-				-					-						3 Kontroll

Atebrin-Ausscheidung in Stunden bei nicht malignen
Erkrankungen:

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	24	25	26	29	32	über 32 h
1			+		?				-						-											
2			?		-				-										-		-					
3			?		-			-						-							-					
4				?				-						-						-						
5			+			-				-					-											
6			?		-			-		-								-								
7			-		-				-					-									-			
8			-			?			-								-									
9			?					+							-				-					-		
10			-		+					-									+				-		-	
11			+	+				-						-					-							
12			?		+				-					-						-						
13			-		-			-					-	-												
14			?		?			-		-																
15			-		-					-											-					
16			?		?			-					-							-						
17			?			?					-									-						
18			-			-				-													-			
19			?			-		-						-												
20				?						-									-							
21			+		-	-								-												
22			+					-										-			-					41 h
23			+		-								-											-		40 h
24			-					-										-			-					
25			-		-			-						-					-							
26			-		-			-						-					-							
27			-					-					-					-			-				-	
28			+		-									-					-					-		
29			?					-			-						-							-		
30			-		-					-					-					-						
31			-		-			?											?		-					39 h
32			-		-				+											-						
33			+					-						-					+						+	45 h

Atebrin-Ausscheidung in Stunden bei nicht malignen
Erkrankungen (Fortsetzung):

Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
34			?		-			-						-				-		
35			?		-			-					-				-			
36	+			?		-		-					-			-				-
37			?		-			+				-					-			
38			-		-															
39			?		-			-				-				-				
40		?		?		?		+						-					-	
41			-		-			-					-					-		
42			+			-					-					-			-	
43		-		?				-						-					-	
44			+			+				-						-				-
45		-			-			-						-				-		
46		+		?				-					-					-		
47	?			?		?				-						-			-	

Anzahl der positiven Bestimmungen zur Gesamtzahl
der Bestimmungen:

	Zahl der Pers.	Zahl der Best.	Zahl der posit. Best.	Zahl der fragl. Best.	Zahl der Versa- ger	Versa- ger in %
Gesunde	25	132	12	17	103	91
nicht maligne Erkrankungen	47	227	23	32	172	90
Carcinom- Trägerinnen	28	112	4	5	103	96

Anzahl der Personen mit und ohne positive Zeichen und
mit positiven Zeichen bezüglich der 3 Stundengrenze:

	mit	ohne	unter 3 Std.	über 3 Std.	mehrf. posit.	Versa- ger in %
Gesunde	9	16	5	4	3	64
nicht maligne Erkrankungen	18	29	9	9	4	62
Carcinom- Trägerin- nen	3	25	2	1	1	89

4.) Auch heute noch ist eine große Zahl der Krebskranken nicht mehr zu retten, weil die Diagnose zu spät gestellt wird. Die Aussicht auf Dauerheilung ist wesentlich abhängig von einer ganz frühzeitigen Erkennung des Leidens. Für die Bekämpfung des Krebses würde eine einigermaßen brauchbare Laborreaktion einen ganz entscheidenden Fortschritt bedeuten.

Da bei Frauen in der heutigen Krebsstatistik die Genitalcarcinome einen hohen Prozentsatz erreichen, haben die von CRAMER, BRILMAYER und Mitarbeitern veröffentlichten Ergebnisse über die Verwendbarkeit der verschiedenen Farbstoffe, vor allem des Atebrins, schon allein deswegen interessiert, weil die Autoren angeben, besonders bei Abdominaltumoren zuverlässige Resultate gefunden zu haben. Sie bezeichnen es als Charakteristikum für das Vorhandensein von Atebrin in dem nach der intravenösen Injektion ausgeschiedenen Harn, daß das Absorptionsspektrum je ein Maximum bei 420, 430 und 450 μ besitzt und finden insofern einen Unterschied zwischen Tumortragern und Gesunden, daß bei den Patienten mit neoplastischen Gewebsveränderungen diese Anzeichen teilweise überhaupt nicht oder meistens nur bis zu 3 Stunden nach der Injektion auftreten. Dauert dagegen die Ausscheidung über diese Zeit hinaus an, so soll bei eben noch nachweisbarem Atebrin im Harn nach 4 Stunden bereits mit großer Wahrscheinlichkeit ein maligner Prozeß ausgeschlossen werden können. (24, 25, 28-32, 69)

BECKER (14) beobachtete mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen bei Gesunden eine Farbstoffausscheidung bis 72 Stunden nach der Applikation, während bei Blastomtragern nur ein Bruchteil des injizierten Atebrins in den ersten 4 bis 6 Stunden eliminiert werden soll, nach diesem Zeitpunkt jedoch keine weitere Ausscheidung festzustellen sei.

Die Autoren schlossen aus ihren Befunden auf eine selektive Farbstoffspeicherung im neoplastischen Gewebe.

Während CRAMER, BRILMAYER und BINGOLD (18) eine Fehlerbreite von 15 % angaben, erzielte BECKER (14) in nur 70 % der Fälle richtige Resultate. CRAMER fand Versager hauptsächlich bei malignen Prozessen im Thorax. BECKER führte dagegen seine Fehlergebnisse auch auf Tuberkulosen und Scirrhen der Brustdrüse zurück. ADERHOLD (6) ist der Überzeugung, daß keine Spezifität der Fluorochromausscheidung im Harn bei Carcinomträgern besteht. Außer Carcinomen und Sarkomen sollen auch Meningeome, Gliome, Leukaemien, Lymphogranulomatosen, spezifische und unspezifische Entzündungen, Hyperplasien und hydropische Zustände zu einer vermehrten Farbstoffretention und damit zu der entsprechenden tumorverdächtigen verzögerten Ausscheidung führen. Auch meint ADERHOLD, daß sich mit dieser Messung nur Tumoren erfassen lassen, die eine gewisse Größe erreicht haben, nicht aber die Frühstadien des malignen Wachstums.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß kein Unterschied zwischen Gesunden und Kranken ohne Neoplasma besteht; die "positiven" Resultate bei Carcinomträgerinnen liegen aber deutlich niedriger. Die Differenz der Resultate der ersten beiden Gruppen einerseits gegenüber den an bösartigen Tumoren Erkrankten andererseits ist zwar statistisch wegen der geringen Zahl der letzteren nicht zu sichern, sie ist aber doch wahrscheinlich ($T = 2,62$) (vergl. Tabelle Seite 40). Es ist außerdem aber darauf hinzuweisen, daß schon bei Gesunden und Personen mit nicht bösartigen Erkrankungen die Zahl der Frauen mit verwertbaren Ausscheidungskurven im Verhältnis zur Gesamtzahl zu klein ist. Die Rate der Versager ist 73,2 %. Ferner kann aus der Gesamtausscheidungstabelle keine Zeit abgelesen werden,

in der sich die positiven Zeichen häufen. Daraus folgt, daß eine große Reihe von Bestimmungen gemacht werden muß, damit überhaupt eventuell positive Zeichen gefunden werden können. Außerdem ist damit zu rechnen, daß im Mittel nur eine Bestimmung unter zehn positiv gewertet werden kann. Die statistische Auswertung der Tabelle 1 auf Seite 40 zeigt, daß die Differenz der Gruppen I und II gegenüber der Gruppe III in bezug auf die Gesamtzahl der Einzelmessungen mit positiven Zeichen ebenfalls nicht gesichert werden kann. Die Differenz (D) ist 6,1 %, die dreifache Streuung der Differenz ($3\sigma_D$) ist 8,9 %.

Im vorliegenden Material müssen selbst unter Anwendung des sehr unsicheren Testes schon bei den Gesunden über 2/3 als "Nichtausscheider" bezeichnet werden. Darüber hinaus steht nicht einmal fest, ob tatsächlich eine positive Ausscheidung gefunden wird, wenn pro Einzelperson zu wenig Bestimmungen gemacht werden.

Auf Grund der sehr hohen Zahl der Versager bei den Gesunden (16/25) wurde die Meßreihe abgebrochen, da einerseits durch die Vergrößerung der Zahl der Patienten keine wesentliche Verbesserung der Ergebnisse zu erwarten war und andererseits die Patienten nicht unnötig belastet werden sollten.

Wie aus den Tabellen hervorgeht (S. 36-38), scheinen die Ergebnisse über die zeitliche Ausscheidung bei Tumor-Kranken - wenn überhaupt bei so kleinem Material etwas ausgesagt werden kann - eher dafür zu sprechen, daß die von CRAMER angegebene 3-Stundengrenze überschritten wird, wodurch die Angaben BECKERS hierzu wahrscheinlicher werden.

Wie schon mehrfach erwähnt, kann bei einem "Versager" des optischen Testes nichts darüber ausgesagt werden, ob nicht doch noch Atebrin ausgeschieden wurde. Wir haben daher versucht, durch eine Aetherextraktion auch noch Spuren quantitativ nachzu-

weisen. Zu diesem Zweck wurde der Harn mit $n/10$ Natronlauge alkalisch gemacht, mit Aether ausgezogen und das Atebrin in $n/10$ Salzsäure aufgenommen. Natürlich können dabei auch andere Farbstoffe in schwacher Konzentration mit ausgezogen werden. In dieser Lösung kann das Atebrin quantitativ durch Absorptionsmessung für den Fall, daß die anderen Farbstoffe nicht das Atebrinspektrum überlagern, bestimmt werden. Wir konnten feststellen, daß die Atebrinausscheidung sowohl bei Tumorkranken als auch bei Patienten, bei denen sicher kein Malignom vorlag, sich zeitlich nicht unterschied: Auch bei Blastomträgern konnte eine länger anhaltende Ausscheidung bemerkt werden.

So betrug zum Beispiel bei der Versuchsperson in Abb. 8 die Atebrin-Konzentration im Aetherauszug nach 33 Stunden $1\frac{1}{2}/\text{ccm}$, während im Harn nach 4 $1\frac{1}{2}$ Stunden bereits kein Atebrin mehr zu "sehen" war. Auch bei der Patientin in Abb. 9, die zu den "Versagern" gerechnet werden mußte, konnte im Aetherauszug nach 8 Stunden noch $1\frac{1}{2}/\text{ccm}$ festgestellt werden.

Somit wurde unsere Annahme bestätigt, daß auch bei den Extinktionskurven, bei denen die beiden Maxima bei 420 und 442 $m\mu$ nicht mehr sichtbar waren, Atebrin trotzdem vorhanden war.

Auch CRAMER hat nach einer zusammen mit MACK ausgearbeiteten Methode das Atebrin aus dem ausgeschiedenen Harn mit Aether extrahiert und quantitativ bestimmt. Er konnte bis zu 500 Stunden nach der Injektion auf diese Weise sowohl bei Gesunden als auch bei Kranken anscheinend bei gleichzeitiger Anreicherung des Atebrins durch Verwendung größerer Harnmengen noch geringste Spuren erfassen. BINGOLD, BRILMAYER und MACK (18) bestätigten, daß sowohl Tumorträger als auch Personen ohne Neoplasma durchschnittlich eine parallele zeitliche und quantitative Ausscheidung zeigen und kommen auf Grund der Tatsache, daß in einem Tumor von 100,0 g Gewicht nur etwa 0,2 % der im Organismus befindlichen

Atebrinmenge gespeichert wurden, zum Schluß, daß von einer ausschlaggebenden quantitativen Beeinflussung der Ausscheidung durch den Tumor nicht gesprochen werden kann. Die Meinung der letzteren Autoren, daß "der tumordiagnostische Effekt also wohl in der veränderten optischen Absorptionsmeßbarkeit des vom tumor-kranken Organismus ausgeschiedenen, chemisch leicht reversiblen Atebrin-Derivats im Harn liege", können wir jedoch nicht beipflichten, weil es nach unseren oben geschilderten Erfahrungen nicht möglich ist, auf der Absorptionsmessung des ausgeschiedenen Harns eine Tumordiagnose aufzubauen. Irgendwelche Theorien darüber aufzustellen, warum das Atebrin im Absorptionsspektrum verschwindet, erscheint nicht angebracht, da der optische Test als Grundlage der Bewertung viel zu ungenau ist, um geringe Spuren exakt nachweisen zu können.

Zusammenfassung

- 1.) Zuerst wird eine kurze Übersicht über den heutigen Stand der Carcinom-Frühdiagnose und der dazu verwendeten Methoden und Reaktionen unter besonderer Berücksichtigung der mit dem Problem der selektiven Speicherung tumoraffiner Farbstoffe eng zusammenhängenden Ausscheidung dieser Substanzen gegeben.
- 2.) Nach verschiedenen Literaturangaben eignet sich besonders das Atebrin dazu, auf Grund von einfach durchzuführenden Absorptionsmessungen an ausgeschiedenen Harnen eine Tumordiagnose aufzubauen.
- 3.) Es wird eine kurze Zusammenfassung der Chemie und Pharmakologie des Atebrins gegeben und anschließend eingehend die methodischen Grundlagen der Fluoreszenzuntersuchung sowie der Absorptionsmessung und deren Fehlergrenze erörtert.
- 4.) Ein exakter quantitativer Nachweis des nur spurenmäßig ausgeschiedenen Atebrins läßt sich im Harn mit Hilfe des Spektrophotometers nicht erbringen, da quantitative Bestimmungen nur an reinen Atebrin-Lösungen bzw. im Modellversuch bei künstlich nachträglich dem Harn zugesetztem Atebrin möglich sind.
- 5.) Bei dem nach der i.v.-Injektion ausgeschiedenen Harn ist jedoch die zu einem exakten Nachweis erforderliche Kenntnis der Eigenabsorption des Harns nicht gegeben.
- 6.) Um wenigstens qualitativ die Ausscheidungskurven bewerten zu können, wurden alle diejenigen Absorptionsspektren als positiv bewertet, die die beiden Atebrinbanden bei 420 und 442 m μ deutlich zeigten, alle übrigen als Versager bezeichnet. Es ist darauf hinzuweisen, daß diese Art der Bewertung nicht einmal von subjektiven Fehlern frei ist.

- 7.) An insgesamt 100 Personen - 25 Gesunden, 47 Pat. ohne Carcinom und 28 Tumorträgerinnen - wurden Ausscheidungskurven teilweise bis zu 45 Stunden nach der Injektion ausgemessen.
- 8.) Es wurden zwar Unterschiede zwischen den Gesunden und den Kranken ohne Carcinom einerseits und den Tumorträgerinnen andererseits gefunden, die darauf hindeuten, daß bei den letzteren die Ausscheidung verzögert ist, jedoch waren schon in der ersten Gruppe 62 % Versager zu verzeichnen.
- 9.) Außerdem mußten noch bei den Gesunden 91 % der Einzelmessungen negativ bewertet werden.
- 10.) Die Tatsache, daß im Aetherauszug - wie schon von anderen Autoren festgestellt - sowohl bei Gesunden als auch bei Tumorträgerinnen Spuren von Atebrin über eine lange Zeitdauer nachgewiesen werden konnten, zeigt, daß auch bei den "Versagern" Atebrin vorhanden gewesen sein mußte.
- 11.) Zusammen mit den Fehlermöglichkeiten, die auf anderen Erkrankungen beruhen, der Fragwürdigkeit der "optischen Bewertung" an sich und der grossen Zahl der Versager, muß daher die Möglichkeit einer Carcinomdiagnose, die auf einer verzögerten Ausscheidung des i.v.injicierten Atebrins beruht, auf Grund einfacher Absorptionsmessungen ausgedehnter Harne stark bezweifelt werden.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. R. Dyroff für die freundliche Überlassung des Themas und den Herren Dr. phil. A. Reuss und Dr. med. K. Fuhrmann für ihre liebenswürdige Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit und anregende Diskussionen meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Literatur - Verzeichnis

- 1.) Abderhalden, E. : Abwehrfermente, 7. Aufl.
Dresden und Leipzig 1944.-
- 2.) "- : Schweiz.med.Wschr. 3, 47 (1946).-
- 3.) "- : Abwehrproteinasen in Ergebnisse
d.Encymforschung, Bd.11, S.1-66,
Leipzig 1950.-
- 4.) Aderhold, K. : Zbl.Chir. 78, 1282 (1953).-
- 5.) "- : Zbl.Chir. 135, 172 (1954).-
- 6.) "- : Bruns 'Beitr. 186, 385-399 (1953).-
- 7.) Albers, Merten, Mücke: Z.Krebsforschung 47, 525 (1938).-
- 8.) "- : Z.Krebsforschung 47, 512 (1938).-
- 9.) Albers, D. : Z.Krebsforschung 47, 543 (1938).-
- 10.) Alberth, Bulbo, Davey: Brit.J.Exper.Path.26, 160
(1945).-
- 11.) Aschheim-Zondek-Reaktion siehe 13.)
- 12.) Bauer, J.u.Karl : Z.exper.Med. 118, 425 (1952).-
- 13.) Bauer, K.H. : "Das Krebsproblem", Springer-Verlg.
Heidelberg 1949.-
- 14.) Becker, Th. : Dtsch.Gesundheitswesen, 7, 1578
(1952).-
- 15.) Bernhard, F. : Dtsch.med.Wschr. 1939^I, 596-599
(1939).-
- 16.) "- : Z.Krebsfschg. 49, 215 (1940).-
- 17.) Bernhard, Köhler : Arch.f.klin.Chir. 193, 543 (1938).-
- 18.) Bingold, K.Brilmayer, C. Mack, A. : Krebsarzt 10, 1
(1955).-
- 19.) Bolen, H.L. : J. Labor.and clin.Med. 27, 1522
(1942).-
- 20.) "- : Amer.J.Surg. 80, 506 (1950).-
- 21.) Boshammer, Koch : zit.nach Stich, siehe 95).-
- 22.) Brdička, R. : Acta Radiol.et Cancerol.Boh.Slov.
2, 7-16 (1939).-
- 23.) "- : 2, 27-41 (1939).-
- 24.) Brilmayer, C. : arztl. Forschung 7, I.369-371
(1953).-

- 25.) Brilmayer, C. Mack, A. Stich, W. : Dtsch. Med. Wschr. 78, 568-574 (1953).-
- 26.) Casperson, T. : Naturw. 29, 33 (1941).-
- 27.) Cramer, H. : Z. Krebsforsch. 58, 28 (1952).-
- 28.) Cramer, H. Brilmayer, C. Pabst, H.W. : Schweiz. med. Wschr. 82, 76 (1952).-
- 29.) Cramer, H. Brilmayer, C. Pabst, H.W. : Münch. med. Wschr. 93, 2239 (1951).-
- 30.) -"- : Med. Klin. 6, 179 (1952).-
- 31.) Cramer, H. Brilmayer, C. : Münch. med. Wschr. 33-34, 94 (1952).-
- 32.) -"- : Münch. med. Wschr. 33-34, 1641 (1952).-
- 33.) Cramer, H. Pabst, H.W. : Z. Krebsforsch. 58, 163 (1952).-
- 34.) Cramer, H. Pabst, H.W. Treibs : Z. Krebsforsch. 58, 453 (1952).-
- 35.) Dammermann, H.J. : Dtsch. med. Wschr. 1951, 886 (1951).-
- 36.) Dawson, W.T. : Amer. Trop. Med. 15, 515-520 (1935).-
- 37.) Dobriner u. M. : Amer. Assoc. Advanc. Sci. 158, (1951).-
- 38.) Domagk, G. : Z. Krebsforsch. 59, 2 (1953).-
- 39.) -"- : Münch. med. Wschr. 94 II, 1842 (1952).-
- 40.) Dovifat, B. : Z. Krebsforsch. 59, 496-515 (1953).-
- 41.) Feulgen : Z. f. Physiol. Chem. 84, 309 (1913).-
- 42.) Ponti, C. : Med. Klin. 180, (1954).-
- 43.) -"- : Med. Klin. 1954, 1402 (1954).-
- 44.) -"- : Med. Klin. 1954, 1007 (1954).-
- 45.) Freund, E. Kaminer, G. : Wien. Klin. Wschr. 1910, 378 (1910).-
- 46.) -"- : Wien. Klin. Wschr. 1933, 1576 (1933).-
- 47.) Fuchs : Z. Krebsforsch. 44, 384 (1936).-
- 47a) Fuehner, H. : Arch. exper. Path. u. Pharm. 51, 391 (1904).-
- 48.) Green : Malay. med. J. Nr. 1 (1934), siehe 108).
- 49.) Hawking, F. : Ann. trop. Med. Parasitol. 32, 385-386 (1938).-
- 50.) Hecht, G. : Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 183, 87-105 (1936).-
- 51.) -"- : Arch. f. exper. Path. u. Pharm. 170, 328-338 (1933).-

- 52.) Hejda, B. : Čas.Lék.česk. 1939, 705 (1939).-
Z.Krebsfschg. 51, 37 (1951).-
- 53.) Herger : J.Urol.Baltimore 46, 286 (1941).-
- 54.) Hlisnikowski, J. : Arztl.Wschr. 1952, 299 (1952).-
- 55.) Hinsberg, K. : Referat, Dtsch.Österr.Krebskon-
gress 1953, München; Fortschr.d.
Med. 17, 975 (1953).-
- 56.) "-" : Z.Krebsfschg. 49, 371 (1940).-
- 57.) Huggins, C.E. : Cancer Res. 9, 117 (1949).-
- 58.) Kahn : Univers.of Michigan Press 26, (1944)
- 59.) "-" : Verh.1.intern.Krebskongress Madrid
1933 II (1933).-
- 60.) Knoth, W. : Z.Krebsfschg. 59, 347-356 (1953).-
- 61.) Kornitz, E. : Münch.med.Wschr. 1955, 289 (1955).-
- 62.) Kortüm, G. : "Kolorimetrie, Photometrie und
Spektrometrie", 3.Auflg.Bd.II, Spring-
er-Verlg., Heidelberg 1955.-
- 63.) Kühne, R. Billson, H. : Arztl.Forsch. 4, II/204 (1955).-
- 64.) Kuhn, Jerchel : Berl.deutsch.chem.Ges. 74, 941 (1941).
- 65.) "-" : Berl.deutsch.chem.Ges. 74, 949 (1941).
- 66.) Latoste, C. : J.Pharm.Chem. 30, 5-13 (Saigon 1939).
- 67.) Lawrence : Zit.n.Cramer u. Pabst.-
- 68.) Lehman-Paciens, H. Witting, F. : Dtsch.med.Wschr. 60, II
1714 (1934).-
- 69.) Leumer : Fortschr.d.Med. 3, 55 (1955).-
- 70.) Lewis, Goland, H. Lettré : Amer.J.med.Sci. 215, 282 (1948).
- 71.) Limburg, H. : Z.Krebsfschg. 58, 478-499 (1952)
zit. n. Gomori.-
- 72.) Low-Beer : Radiology 47, 213 (1946).-
- 73.) "-" : Radiologie 5, (1947).-
- 74.) Maier, E. v.Christiani : Z.Krebsfschg. 49, 679 (1940).-
- 75.) Mauss, H. : Klin.Wschr. 33, 1276 (1933).-
- 76.) Menken : Fortschr.d.Med. 17, 375 (1953).-
- 77.) Merten : Z.Krebsfschg. 47, 533 (1938).-
- 78.) Meuser : Z.Urol. 44, 157 (1951).-
- 79.) Meyer-Heck : Z.Krebsfschg. 49, 560 (1940).-
- 80.) Moore, G.E. : J.Neurol. 5, 348 (1949).-

- 81.) Moore, G.E. : Amer.J.Roentg. 1,1 (1951).-
- 82.) -"- : Science 106,130 (1947).-
- 83.) Normann,Slicher : Amer.J.Digest. 17,31 (1950).-
- 84.) Osten, W. : Z.Krebsfschg. 59,310-315 (1953).-
- 85.) Pabst,H.W. : Diss.v.Krell, München 1953.-
- 86.) Robinson, G.S. : Arch.Surg. 41,730-739 (1940).-
- 87.) -"- : Z.Krebsfschg. 51, R 178 (1941).-
- 88.) Robinson,J.M. : J. Urol.Baltimore 42,602 (1939).-
- 89.) Rodewald : Z.Krebsfschg. 47,540 (1938).-
- 90.) Ronnefeld : Klin.Wschr. 25,986 (1933).-
- 91.) Sauer : Urol. Bev. 45,283 (1941).-
- 92.) Shapiro,Landing : Science 108,304 (1948).-
- 93.) Schümmelfeder,N. : Z.Krebsfschg. 59,223-229 (1953).-
- 94.) Soni : Indian.Med.Gaz. 4,211 (1935),zit.
n. 108.).-
- 95.) Stich,W. : Med.Klin. 49 II,1522 (1954).-
- 96.) -"- : Fortschr.d.Med. 17,375 (1953).-
- 97.) Straus,F.H. : Science (Lancaster PA) 108,113 (1948).
- 98.) Sutmann, A.B. : Amer.J.Cancer 38,103 (1940).-
- 99.) Takeuchi,Shigeki : Mitt.jap.Ges.f.Gynäk. 33, (1938),
japanisch; engl.Zus.-Fassg.44-55.
Z.Krebsfschg. 49,76 (1940).-
- 100.) Tetzner,E. : Z.Krebsfschg. 59,74 (1953).-
- 101.) Thomas,J. Dittmeyer,R. : Tag.Bayer.-Ges.f.Geburtsh.u.
Frauenhkl.23.-24.4.1955,Würzburg.-
- 102.) Triebel,R. Emmerich : Med.Klin. 28,993 (1953).-
- 103.) Tropp,C. : Arch.f.exper.Path.u.Pharm. 170,
339-346 (1933).-
- 104.) Wagner-Jauregg : Z.Physiol.Chem. 239,118 (1936).-
- 105.) Waldschmidt-Leitz : Angew.Chem. 51,324 (1938).-
- 106.) Wassermann, A.Keysser,M. : Dtsch.med.Wschr. 37,
2389. (1911).-
- 107.) Wedemeyer,H.E. u.Daur,Th. : Z.Krebsfschg. 49,10 (1940).-
- 108.) Wimmer,P. : "Zur Frage der abortiven Wirkung des
Atebrins", Diss.Erlangen 1948.-
- 109.) Witting, F.H. : Ärztl.Forschg. 7,I,372 (1953).-
- 110.) Wynne : Amer.J.clin.Path. 22,28 (1952).-

L e b e n s l a u f

Am 1. November 1926 wurde ich, Dietrich, Otto, Robert Lindner, als Sohn des 1947 verstorbenen praktischen Arztes Dr. med. Hubert Lindner und seiner Ehefrau Hildegard, geborene Wiczorek, in Gumpertsdorf/Oberschlesien geboren. Nach vier Grundschuljahren daselbst besuchte ich die Hindenburg-Oberschule in Oppeln O/S, die ich wegen Einberufung zum Wehrdienst 1943 verlassen mußte. Ich diente als Reservist bei der deutschen Kriegsmarine bis zum Kriegsende. Während der Fronteinsätze wurde ich zweimal verwundet. Nach dem Zusammenbruch geriet ich in englische Kriegsgefangenschaft, aus der ich im Herbst 1945 entlassen wurde. Nach einem Abiturlehrgang für Kriegsteilnehmer an der Bessel-Oberschule in Minden/Westf. bestand ich im Herbst 1946 die Reifeprüfung. Mit dem Sommer-Semester 1947 begann ich das Medizinstudium an der Philosophisch-Theologischen Hochschule in Bamberg und legte dort das Vorphysikum nach dem zweiten Semester ab. Vom dritten bis zum zehnten Semester studierte ich an der Universität Erlangen, an der ich 1949 das Physikum und im Winter 1953 das medizinische Staatsexamen bestand. Anschließend absolvierte ich meine Pflichtassistentenzeit, und zwar an der Medizinischen Poliklinik, im Marien-Hospital und an der Universitäts-Frauenklinik in Erlangen. Seitdem bin ich Volontär-Assistent der Universitäts-Frauenklinik Erlangen.

Photodruck von 

